

博士(医学) 岩田 暁美

論文題目

Modulation of allopregnanolone on excitatory transmitters release from single glutamatergic terminal

(アロプレグナノロンによる単一グルタミン酸作動性神経終末からの興奮性神経伝達物質放出の調節)

論文審査の結果の要旨

アロプレグナノロン(Allo)などの神経ステロイドは、シナプス後ニューロンでの  $\gamma$ -aminobutyric acid type A (GABA<sub>A</sub>) 受容体に対する調節機構がよく知られているが、シナプス前 GABA<sub>A</sub> 受容体への作用については、神経終末が小さく直接記録が困難などの理由から調べられていない。申請者らは、海馬 CA3 錐体ニューロンを機械的に単離し、機能的なグルタミン酸作動性神経終末(ブートン)が多数付着した単一ニューロンを用いて、ホールセルパッチクランプ法によりシナプス後電流(excitatory postsynaptic currents, EPSCs)を記録し、ブートンからのグルタミン酸放出に対する Allo の作用を調べた。

膜電位固定した海馬 CA3 錐体ニューロンにおいて、Allo は低濃度で GABA<sub>A</sub> 受容体応答を増強し、高濃度では直接的に膜に外向き電流を誘発した。自発性グルタミン酸遊離による EPSCs に対しては、低濃度(10-30 nM) Allo は頻度を増加させ、シナプス前 GABA<sub>A</sub> 受容体の活性化によるシナプス前終末が脱分極した終末の興奮性の増加を示唆した。一方で、高濃度(100 nM) Allo では頻度が減少し、シナプス前 GABA<sub>A</sub> 受容体の強い活性化によってシナプス前終末に強い脱分極が起こり、シナプス前 Na<sup>+</sup>チャネルの不活性化やシャント効果により伝達物質の放出が減少したためと考えられた。また、このような濃度依存性の相反的シナプス前作用は焦点電気刺激による活動電位依存性 EPSCs でもみられた。低濃度(10 nM) Allo では、振幅が増加、1つ目の電流の発生失敗率とペアパルス比が減少し、GABA<sub>A</sub> 受容体を介してシナプス前終末を脱分極させ、これがシナプス前活動電位発火または Ca<sup>2+</sup>チャネル活性化を促進してグルタミン酸放出確率を増やすと考えられた。また高濃度(100 nM 以上) Allo では、逆に振幅が減少、発生失敗率は増加し、細胞膜抵抗のシャントまたはシナプス前 GABA<sub>A</sub> 受容体の持続的な脱分極による Na<sup>+</sup>チャネルの不活性化の寄与が考えられた。以上より、Allo はグルタミン酸作動性神経終末の GABA<sub>A</sub> 受容体の活性化を介した脱分極によりグルタミン酸放出を調節することが明らかになった。

論文審査委員会では、神経ステロイドのシナプス前 GABA<sub>A</sub> 受容体への作用についてはじめて電気生理学的に明らかにした点を高く評価し、本論文は博士(医学)の学位の授与にふさわしいと審査員全員一致で評価した。

論文審査担当者

主査 山本 清二

副査 森 則夫

副査 矢尾 育子